

539,560

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004年7月8日 (08.07.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/056990 A1

(51) 国際特許分類:
15/09, 1/15, 1/19, 1/21, 5/10, C12P 13/00 C12N 9/88,

かおり (MATOISHI,Kaori) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県
茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP).
伊藤 潔 (ITO,Kiyoshi) [JP/JP]; 〒299-0265 千葉県 袖ヶ
浦市 長浦 5 8 0 - 3 2 三井化学株式会社内 Chiba (JP).
小林 英樹 (KOBAYASHI,Hideki) [JP/JP]; 〒297-0017 千
葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba
(JP). 田中 英司 (TANAKA,Eishi) [JP/JP]; 〒299-0265 千
葉県 袖ヶ浦市 長浦 5 8 0 - 3 2 三井化学株式会社内
Chiba (JP). 及川 利洋 (OIKAWA,Toshihiro) [JP/JP]; 〒
297-0017 千葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式
会社内 Chiba (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/016014

(22) 国際出願日: 2003年12月15日 (15.12.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2002-368360
2002年12月19日 (19.12.2002) JP
特願 2003-379280
2003年11月10日 (10.11.2003) JP

(81) 指定国(国内): AU, CN, DE, GB, ID, KR, US.

(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 三井化
学株式会社 (MITSUI CHEMICALS, INC.) [JP/JP]; 〒
105-7117 東京都 港区 東新橋一丁目 5 番 2 号 Tokyo
(JP).

規則4.17に規定する申立て:

— USのみのための発明者である旨の申立て (規則
4.17(iv))

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 八巻 俊文 (YA-
MAKI,Toshifumi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市
東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 番場 伸
一 (BANBA,Shinichi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原
市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 的石

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイドスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL NITRILE HYDRATASE

(54) 発明の名称: 新規なニトリルヒドラターゼ

(57) Abstract: It is aimed at providing the amino acid sequence of a nitrile hydratase having a novel mutation point and the base sequence of the gene. It is also aimed at providing a method of modifying an enzyme having a nitrile hydratase activity. As a means of achieving the above objects, the amino acid sequence of a mutant, which is obtained by transferring a novel mutation into a *Pseudonocardia thermophila* JCM3095-origin nitrile hydratase consisting of two types of hetero subunits, and the base sequence of the gene are provided. Further, the nitrile hydratase is modified by specifying the region to be modified in the stereostructure and/or the amino acid sequence in the nitrile hydratase and altering (substituting, inserting, deleting, etc.) the amino acids corresponding to the amino acid residues constituting the above region. Thus, a nitrile compound can be efficiently converted into the corresponding amide compound, compared with the existing techniques.

A1

WO 2004/056990

(57) 要約: 本発明は新規な変異点を有するニトリルヒドラターゼのアミノ酸配列及び該遺伝子の塩基配列を提供することを課題とし、また、ニトリルヒドラターゼ活性を有する酵素の改変方法を提供することをも課題としている。上記課題を解決する手段として、シュードノカルディア・サーモフィラ *Pseudonocardia thermophila* JCM3095由來であり、ヘテロ2種のサブユニットから構成されるニトリルヒドラターゼに新規な変異を導入し、得られる変異体のアミノ酸配列及び該遺伝子の塩基配列を提供する。更に、改変の対象となる領域をニトリルヒドラターゼ中の立体構造/アミノ酸配列中に特定し、該領域を形成するアミノ酸残基に相当するアミノ酸配列中のアミノ酸に置換・挿入・削除等の変更を加える事によってニトリルヒドラターゼを改変する。本発明により、ニトリル化合物を対応するアミド化合物に、従来技術に比して効率良く変換することが可能となる。